

УДК 574.24: 574.21

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ POTAMOGETON PERFOLIATUS L. КАК ИНДИКАТОРЫ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДЫ САРАТОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ¹

© 2006 Макурина О.Н.², Удиванкин А.В.³

В экспериментах *in vivo* на многолетнем водном бентосном растении рдест пронзенolistный (*Potamogeton Perfoliatus* L.) исследовалось влияние ионов Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Al^{3+} на содержание различных групп белков в листьях. Предположены возможные механизмы реакций объекта, вызывающих изменения в содержании белков.

Введение

Проблема экологического состояния водных объектов является актуальной для всех водных бассейнов России. Значительная часть пресноводных экосистем функционирует в режиме высоких нагрузок химическими, радиоактивными и иными поллютантами. Состояние водных ресурсов Самарской области рассматривается как очень тяжелое [5]. На качество воды оказывают влияние перенос загрязненных вод с верховьев реки, а также сброс недостаточно очищенных сточных вод от предприятий Северного промышленного узла г. Тольятти.

Одними из наиболее представленных в водоемах Самарской области и одновременно наиболее опасными для живых существ поллютантами являются тяжелые металлы. Это связано с биологической активностью многих из них. Несмотря на крупнейший спад производства, происходящий в России с начала 90-х годов и, в силу этого, некоторое снижение общего количества загрязняющих веществ в водоемах, экологическая ситуация, связанная с тяжелыми металлами, продолжает ухудшаться [3].

Исследования роли металлов в жизнедеятельности растений имеют продолжительную историю. Несмотря на постоянное внимание ученых, уделяемое разным аспектам этой проблемы, до сих пор остаются нераскрытыми многие аспек-

¹ Представлена доктором биологических наук профессором В.Г. Подковкиным.

² Макурина Ольга Николаевна (makurina@gmail.com), кафедра биохимии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

³ Удиванкин Алексей Валерьевич (udivankin@gmail.com), кафедра биологии Самарского муниципального университета Наяновой, 443001, Россия, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 196.

ты действия тяжелых металлов на различные уровни организации живого – от молекулярного до организменного и биоценотического. Актуальность этой проблемы в настоящее время трудно недооценить в связи с постоянно увеличивающимся техногенным воздействием на биосферу, одним из следствий которого является рост поступления в окружающую среду как тяжелых, так и щелочных металлов. С целью принятия обоснованных заключений в природоохранной деятельности, сельском хозяйстве необходимы точные и полные представления о закономерностях формирования реакции биологических систем разного уровня на воздействие металлов. Анализ изменений метаболизма растений, происходящих под влиянием ионов металлов должен опираться в первую очередь на знания о механизмах их поступления в клетки, а также защитных реакций растений от их токсического действия.

Рдест пронзенolistный (*Potamogeton Perfoliatus L.*) является одним из многих растений, условия произрастания которого позволяют проводить подобные эксперименты, являясь бентосным макрофитом, рдест произрастает на небольшой глубине и равномерно заполняет площадь дна. Эксперименты, проводимые в естественных условиях, позволяют оценить эффект действия токсикантов в условиях, максимально приближенных к антропогенным загрязнениям окружающей среды.

Методика исследования

В ходе эксперимента было выделены группы растений, которые произрастали в среде, содержащей 1 мкМ/л нитрата каждого металла. Растения произрастали в естественной среде обитания, на площади около 0,5 м², ограниченной полиэтиленовыми цилиндрами. Длительность экспозиции составила 3-е суток.

Контрольных группы было выбрано две: одна из них (в приведенной ниже таблице – «КБ») включала растения, растущие в тех же условиях что и исследуемые растения, но в отсутствие внесенной соли меди в среде. Вторая контрольная группа (в приведенной ниже таблице – «К») включала в себя растения, не ограниченные от внешней среды емкостями, т.е. произраставшие в естественных для себя условиях. Подобное деление позволяет оценить вклад ограничения среды емкостями в исследуемый показатель.

Соли металлов добавляли к емкостям с растениями для поддержания постоянной концентрации в среде. Для анализа использовали листья 4-7 ярусов от начала побега. Отобранные пробы тщательно отмывали в водопроводной воде, подсушивали фильтровальной бумагой и замораживали при температуре -20°C. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда [3]. Экстракцию мембраносвязанных белков производили с использованием детергента Тритон X-100 с разделением центрифугированием при 10000g.

Результаты исследования

В результате исследования было выявлено снижение содержания водорастворимых белков относительно контроля у растений, выдержанных в среде с добавлением соли Zn и Pb. Растения, подвергшиеся экспозиции в среде с ионами Zn в заданной концентрации, отличаются на 44% пониженным содержанием цитозольных белков (см. таблицу)

Таблица

Содержание в листьях растений исследуемых групп, мг/г

Металл	Цитозольные белки	Мембраносвязанные белки
Cu	1,02±0,08	1,79±0,08
Zn	0,91±0,06	1,72±0,06
Cd	1,44±0,09	2,05±0,08
Pb	1,09±0,06	1,77±0,07
Al	1,22±0,11	2,02±0,09
K	1,37±0,06	1,45±0,06
КБ	1,38±0,08	1,51±0,07

Экспозиция растений в среде, содержащей медь и свинец, как видно из приведенных данных, также приводит к снижению содержания водорастворимых белков в листьях объекта (25 и 22 % соответственно). Содержание цитозольных белков в листьях растений, выращенных в среде, содержащей ионы алюминия и кадмия, не отличается от контроля с заданным уровнем достоверности (95 %).

По данным многочисленных исследований [2,4,8,9] известно, что наличие в среде ионов многих тяжелых металлов индуцирует синтез металлотионеинов в растениях – белков, обеспечивающих процессы детоксикации при поступлении ионов металлов в клетку. Однако длительность экспозиции и особенности метаболизма выбранного объекта, видимо, обусловили полученные результаты. Нам представляется наиболее вероятным, что снижение содержания водорастворимых белков является следствием неспецифической токсичности тяжелых металлов, которые, как известно, способны угнетать фотосинтез, снижать ферментативную активность, угнетать процессы транспорта и метаболизм в целом [4,9].

В приведенной выше таблице также представлены результаты измерения содержания мембраносвязанных белков в листьях растений.

В группе растений, среда которых содержала ионы кадмия, наблюдалось увеличение количества белков на 36 %. При наличии ионов свинца и меди в среде количество белков в листьях растения возросло на 17 и 19 % соответственно относительно контрольной группой КБ.

Присутствие в среде ионов алюминия увеличивает содержание белков на 33 % по сравнению с контрольной группой. Ввиду различных механизмов действия алюминия и кадмия на растения, повышение содержания мембраносвязанных белков в листьях растений данных групп следует считать следствием различных реакций растений. В случае с ионами Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} имеет ме-

сто индуцирование синтеза металлотионеинов, часть которых локализована в мембранах. Токсическое действие алюминия на растения, показанное в исследованиях некоторых авторов [9], может сопровождаться активным синтезом стрессовых белков, а также вести к различного рода нарушениям функций мембран.

Выводы

Реакции рдеста пронзенолистного, произрастающего в естественных условиях, на наличие в среде ионов тяжелых металлов в трехдневной экспозиции, по видимому, имеют различный и многоплановый характер, и приводят, в большинстве случаев, к снижению содержания цитозольных и увеличению содержания мембраносвязанных белков в листьях растения, что может служить показателями загрязнения среды тяжелыми металлами. Механизмы токсического действия алюминия на растения отличается от действия других исследованных металлов, что подтверждается полученными в ходе исследования результатами анализа содержания белков различных групп.

Литература

- [1] Bredford, M. M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein dye binding / M.M. Bredford // Ann. Biochem. – 1976, – V. 72, – P. 248-254.
- [2] Гавриленко Е.Е. Накопление и взаимодействие ионов меди, цинка, марганца, кадмия, никеля и свинца при их поглощении водными макрофитами / Е.Е. Гавриленко, Е.Ю. Золотухина // Гидробиологический журнал. – 1989. – № 5. – С. 54-62.
- [3] Демидчик В.В. Поступление меди в растения и распределение в клетках, тканях и органах / В.В. Демидчик, А.И. Соколик, В.М. Юрин // Успехи современной биологии. – 2001. – Т. 121. – С. 190-197.
- [4] Розенберг Г.С. Волжский бассейн: экологическая ситуация и пути рационального природопользования / Г.С. Розенберг, Г.П. Краснощеков. – Тольятти: ИЭВБ РАН. – 1996. – 249 с.
- [5] Розенцвет О.А. Аккумуляция меди и ее влияние на метаболизм белков, липидов и фотосинтетических пигментов в листьях *Potamogeton Perfoliatus* / О.А. Розенцвет, С.В. Мурзаева, И.А. Гущина // Известия Самарского научного центра РАН. – 2003. Т. 5, № 2. – С. 305-311.
- [6] Эколого-биохимический подход к изучению липидов водных растений / О.А. Розенцвет [и др.] // Известия Самарского научного центра РАН. – 2000. – Т. 2. – № 2. – С. 358-366.
- [7] Лебедева А.Ф. Устойчивость цианобактерий и микроводорослей к действию тяжелых металлов: роль металлсвязывающих белков / А.Ф. Лебедева, Я.В. Саванина, Е.Л. Барский // Вестн. МГУ. – 1998. – № 2. – С. 42-49.

- [8] Феник, С.И. Механизмы формирования устойчивости растений к тяжелым металлам / С.И. Феник, Т.Б. Трофимьяк, Я.Б. Блюм // Усп. совр. биол., – 1995. – Т. 115, – Вып. 3. – С. 261-275.

Поступила в редакцию 25/IX/2006;
в окончательном варианте – 4/X/2006.

BIOCHEMICAL QUOTIENTS OF *POTAMOGETON PERFOLIATUS* L. AS INDICATORS OF ANTHROPOGENIC POLLUTION BY HEAVY METALS IN SARATOV BASIN⁴

© 2006 O.N.Makurina⁵, A.V. Udivankin⁶

In series of *in vivo* experiments effect of Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Al^{3+} ions on proteins content in *Potamogeton Perfoliatus* L. leaves is studied. The most probable mechanisms of adaptive responses, causing such quantitative changes of plant protein are discussed.

Paper received 25/IX/2006.

Paper accepted 4/X/2006.

⁴ Communicated by Dr. Sci. (Biology) Prof. V.G. Podkovkin.

⁵ Makurina Olga Nikolaevna (makurina@gmail.com), Dept. of Biochemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁶ Udivankin Aleksey Valerjevich (udivankin@gmail.com), Dept. of Biology, Nijanova University, 443001, Samara, Russia.